



# Исследование чувствительности *in vitro* 200 клинических изолятов *Candida spp.* к местным антимикотикам, используемым для лечения вульвовагинального кандидоза: имидазольным препаратам и нистатину\*

Ф. Шукри (F. Choukri), М. Бендердуш (M. Benderdouche),  
П. Седнауи (P. Sednaoui)  
Лаборатория микробиологии, институт Альфреда Фурнье, Париж, Франция

Местные антимикотики широко рекомендуются для лечения вульвовагинального кандидоза (ВВК). Наиболее часто назначаемые местные антимикотики — имидазолы клотримазол, миконазол, эконазол и полиен нистатин — представлены на фармацевтическом рынке на протяжении уже более 30 лет. Имеется очень мало новых данных о чувствительности к вышеуказанным антимикотикам различных видов *Candida*, особенно *non-albicans* штаммов, которые, по-видимому, менее восприимчивы к лечению имидазолами. Цель исследования заключалась в определении в условиях *in vitro* чувствительности большого количества недавно выделенных клинических изолятов *Candida spp.* к наиболее часто назначаемым местным антимикотикам.

Исследование на чувствительность к антимикотикам было проведено с использованием метода микро-разведения в бульоне в соответствии с протоколом M27-A3 Института клинических и лабораторных стандартов США (Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI). Также были определены минимальные ингибирующие концентрации (МИК) для эконазола, миконазола, клотримазола и нистатина. Клинические изоляты включали: *Candida albicans* — 113 штаммов, *Candida glabrata* — 54 штамма, *Candida krusei*, *Candida tropicalis* и *Candida parapsilosis* — по 11 штаммов каждого вида. МИК<sub>90</sub> трех азольных препаратов по отношению к изолятам *C. albicans* составила 0,06 мг/л, в то время как МИК<sub>90</sub> нистатина — 4 мг/л. Значения МИК<sub>90</sub> в отношении изолятов *Candida non-albicans* колебались в диапазонах 0,5-8; 1-4 и 0,12-4 мг/л для эконазола, миконазола и клотримазола соответственно. Показатель МИК<sub>90</sub> нистатина оставался на уровне 4 мг/л для всех протестированных видов *Candida non-albicans*.

Результаты данного исследования подтверждают восприимчивость *C. albicans* к наиболее часто применяемым местным антимикотикам и могут служить аргументом в пользу лечения вульвовагинального кандидоза, вызванного разновидностями *Candida non-albicans*, с помощью альтернативных имидазолу лекарственных средств, таких как нистатин.

Ключевые слова: вульвовагинальный кандидоз, *Candida spp.*, местные имидазольные препараты, нистатин.

ВВК — это вторая наиболее распространенная причина вагинита после бактериального вагинита, ежегодно поражающая миллионы женщин по всему миру [12, 25]. Данную инфекцию диагностируют у 70-75% женщин всех возрастов как минимум один раз в течение жизни, у 40-45% — два и более раз [7, 25].

В 85-95% случаев причиной ВВК являются дрожжеподобные грибы вида *Candida albicans* [25],

в остальных — штаммы *Candida non-albicans*, главным образом *Candida glabrata* [4, 18].

Согласно результатам некоторых исследований, ВВК, вызванный *Candida non-albicans*, становится все более распространенным [6, 29, 30]. Рост заболеваемости может быть обусловлен различными причинами, в т.ч. чрезмерным применением противогрибковых препаратов, продаваемых без рецепта, лечением однократной дозой,

\*Journal de Mycologie Medicale (2014), 24, 303-307.



низкодозированными азолами [22] или увеличением количества пациенток высокого риска (например с диабетом и ВИЧ-инфекцией) [7, 29]. Тем не менее в других исследованиях не подтверждено предположение о том, что учащение случаев ВВК вызвано *Candida non-albicans* [26, 28].

На основании клинических проявлений, микробиологических показателей, индивидуальных факторов и результатов лечения ВВК можно классифицировать как неосложненный (около 90% случаев) и осложненный (приблизительно 10%) [7]. Неосложненный ВВК обычно вызывают *C. albicans*; лечение проводят различными местными или пероральными антимикотиками, в т.ч. нистатином и азолами. Азольные препараты для внутривагинального (имидазолы) или перорального применения часто рекомендуют как первоочередные средства лечения [7, 17, 31]. Некоторые исследования показали, что более 90% случаев неосложненного ВВК можно вылечить при помощи разовой дозы азольного препарата для перорального применения или короткого курса местной терапии имидазолом [17, 23, 31]. Данные, свидетельствующие о преимуществе одного препарата по сравнению с другим для местного применения, отсутствуют [19, 24].

Осложненный ВВК может быть определен как острая или рецидивирующая инфекция, вызванная видами дрожжеподобных грибов *Candida*, не относящимися к *C. albicans*, и/или как следствие различных нарушений в организме женщины (например неконтролируемого диабета, истощения, иммунодепрессии) [7]. Оптимальное лечение осложненного ВВК до сих пор остается неизвестным. Тем не менее его обычно проводят при помощи многократного приема азольных препаратов или длительного курса местной терапии имидазолами [17]. Результаты некоторых исследований свидетельствуют, что осложненный ВВК, вызванный *non-albicans* штаммами, трудно купировать препаратами на основе имидазола вследствие сниженной восприимчивости микроорганизмов к данному классу антимикотиков [10, 14, 16, 21, 22]. Полиен нистатин был предложен как альтернатива имидазолам для лечения осложненного ВВК, вызванного *non-albicans* видами. Нистатин известен как высокоэффективное средство лечения инфекций, обусловленных грибами *Candida spp.* Он рекомендован европейскими нормативными документами в качестве первой линии терапии хронического ВВК, вызванного *C. glabrata* [23].

Наиболее часто для лечения ВВК назначаются имидазольные противогрибковые препараты (клотримазол, миконазол, эконазол), а также полиен нистатин. Так как эти лекарственные средства доступны на рынке уже более 30 лет, со временем эффективность их противогрибкового действия могла измениться. По нашим сведениям, новые данные об эффективности *in vitro* этих местных

антимикотиков против различных видов *Candida* весьма немногочисленны. Таким образом, в данном исследовании мы хотели изучить чувствительность *in vitro* множественных недавно выделенных клинических изолятов *Candida spp.* (а именно *albicans* и *non-albicans* штаммов) к клотримазолу, миконазолу, эконазолу и нистатину.

## Материалы и методы исследования

### Изоляты дрожжевых грибов рода *Candida*

Две сотни клинических изолятов дрожжевых грибов рода *Candida*, большинство из которых являлись вагинальными изолятами, были получены в лаборатории микробиологии института Альфреда Фурнье и в Европейском госпитале имени Жоржа Помпиду с сентября 2008 по апрель 2011 г. (табл.).

Идентификация видов *Candida* была осуществлена с помощью исследования структуры колонии в хромогенной среде (ChromID™ *Candida*; Биомерье, Франция) после 24-48 ч инкубации при температуре 35 °С с использованием стандартной системы (стрипы API® *Candida*; Биомерье, Франция).

Чтобы гарантировать чистоту и жизнеспособность, замороженные клетки изолятов дрожжей засеяли на агар Сабуро с декстрозой и хлорамфениколом и инкубировали при температуре 35 °С на протяжении 24 ч. Эту процедуру повторили дважды, перед тем как провести тестирование на чувствительность к антимикотикам.

### Антимикотические препараты

Были исследованы следующие местные антимикотики: азола — эконазол, миконазол и клотримазол (Sigma, Сен-Кантен Фаллаве, Франция) и полиен нистатин (Sigma). Поскольку все они не растворяются в воде, их растворили в диметилсульфоксиде (DMSO; Sigma). Из каждого испытуемого препарата были приготовлены двукратные серийные разведения с конечной концентрацией микроорганизмов в диапазоне от 32 до 0,06 мг/л для нистатина и от 8 до 0,015 мг/л для эконазола, миконазола и клотримазола.

### Тестирование на чувствительность к антимикотикам

Тестирование на чувствительность к антимикотикам проводили с помощью метода микро-разведения в бульоне на основании протокола CLSI M27-A3 [8] с применением питательной среды с глутамином, без бикарбоната (раствор RPM11640; Sigma). В качестве буферного раствора была использована 3- (N-морфолино) пропансульфоновая кислота (MOPS; Sigma) с показателем pH 7,0 и конечной концентрацией 0,165 моль/л.

Задаточные дрожжи были приготовлены путем отбора колоний из культур возрастом 24 ч и помещения их в 5 мл стерильного физиологического раствора (0,85% NaCl). Плотность клеток в полученной суспензии была отрегулирована до стандарта мутности по МакФарланду 0,5,

Таблица. МИК четырех антимикотиков в отношении 200 клинических изолятов дрожжевых грибов рода *Candida*

Антимикотик	МИК <sub>50</sub> *, мг/л	МИК <sub>90</sub> ** , мг/л	Диапазон МИК (от минимального до максимального значения), мг/л
<i>C. albicans</i> (n=113)			
Эконазол	0,03	0,06	0,015-0,25
Клотримазол	0,03	0,06	0,015-4
Миконазол	0,06	0,06	0,015-0,25
Нистатин	2	4	1-4
<i>C. glabrata</i> (n=54)			
Эконазол	0,12	0,5	0,03-4
Клотримазол	2	4	0,25-8
Миконазол	0,5	1	0,06-4
Нистатин	4	4	4
<i>Candida krusei</i> (n=11)			
Эконазол	4	8	1-8
Клотримазол	0,5	0,5	0,25-0,5
Миконазол	4	4	0,5-4
Нистатин	4	4	4
<i>Candida tropicalis</i> (n=11)			
Эконазол	1	1	0,03-1
Клотримазол	0,12	0,25	0,12-0,25
Миконазол	2	2	0,06-4
Нистатин	2	4	2-4
<i>Candida parapsilosis</i> (n=11)			
Эконазол	1	2	0,12-4
Клотримазол	0,12	0,12	0,03-0,5
Миконазол	2	4	1-8
Нистатин	4	4	2-4

\*МИК<sub>50</sub> подавляет рост 50% изолятов; \*\*МИК<sub>90</sub> подавляет рост 90% изолятов.

что соответствовало  $1 \times 10^6 - 5 \times 10^6$  КОЕ/мл. Затем суспензия была дважды растворена: сначала стерилизованной водой 1:20, а затем раствором RPMI 1:50, чтобы получить  $1 \times 10^3 - 5 \times 10^3$  КОЕ/мл. Впоследствии 100 мкл этого посевного раствора и 100 мкл противогрибкового (с рабочей концентрацией в два раза выше, чем необходимая конечная концентрация) были засеяны в U-образные ячейки стерильных одноразовых 96-луночных планшетов. В каждой планшете конечная концентрация посевного материала составляла  $0,5 \times 10^3 - 2,5 \times 10^3$  КОЕ/мл. В каждую микропланшетку была добавлена отрицательная контрольная проба (среда без посевного материала) и положительная контрольная проба (посевной материал без антимикотика).

Планшеты инкубировали при температуре 37 °C, МИК была определена визуально через 48 ч с помощью сравнения роста в планшетах с противогрибковым раствором и с положительной контрольной пробой.

МИК нистатина, вызвавшая полное ингибирование роста, была наиболее низкой

(как рекомендовано для других полиенов, например амфотерицина В), а у эконазола, миконазола и клотримазола таковая обусловила приблизительно 50% сокращение роста по сравнению с ростом в планшете с положительной контрольной пробой (как рекомендовано для других азольных препаратов, например флуконазола). Контроль качества был обеспечен посредством тестирования контрольных штаммов *C. parapsilosis* ATCC 22019 и *C. krusei* ATCC 6258 в соответствии с рекомендациями по контролю качества Института клинических и лабораторных стандартов США.

#### Результаты исследования и их обсуждение

Всего было протестировано 113 изолятов *C. albicans* и 87 изолятов *C. non-albicans* (54 *C. glabrata*, 11 *C. krusei*, 11 *C. tropicalis* и 11 *C. parapsilosis*) для определения их чувствительности *in vitro* к каждому антимикотику.

Результаты представлены по показателям МИК, подавляющей рост 50% изолятов (МИК<sub>50</sub>); МИК, подавляющей рост 90% изолятов (МИК<sub>90</sub>), и по диапазону значений МИК (от минимального



до максимального значения) для всех видов *Candida* и антимикотиков (табл.). В целом полученные данные свидетельствуют, что три азольных препарата были особенно эффективны против *C. albicans* и в меньшей степени против других видов *Candida*. Так, МИК<sub>90</sub> эконазола была самой низкой для *C. albicans* (0,06 мг/л), затем следовали показатели *C. glabrata* (0,5 мг/л, т.е. в 8 раз выше), *C. tropicalis* (1 мг/л, в 16 раз выше), *C. parapsilosis* (2 мг/л, в 33 раза выше) и *C. krusei* (8 мг/л, в 133 раза выше). Аналогично МИК<sub>90</sub> клотримазола была самой низкой для *C. albicans* (0,06 мг/л), далее следовали показатели *C. parapsilosis* (0,12 мг/л, т.е. в 2 раза выше), *C. tropicalis* (0,25 мг/л, т.е. в 4 раза выше), *C. krusei* (0,5 мг/л, т.е. в 8 раз выше) и *C. glabrata* (4 мг/л, т.е. в 67 раз выше). МИК<sub>90</sub> миконазола была самой низкой для *C. albicans* (0,06 мг/л), далее следовали показатели *C. glabrata* (1 мг/л, т.е. в 17 раз выше), *C. tropicalis* (2 мг/л, т.е. в 33 раза выше), *C. krusei* и *C. parapsilosis* (4 мг/л для обоих, т.е. в 67 раз выше).

МИК<sub>90</sub> нистатина была одинаковой для *C. albicans* и других протестированных видов *C. non-albicans* (4 мг/л).

Результаты контроля качества штамма были воспроизводимыми, однако не было пограничных значений согласно стандартам CLSI для данных штаммов с протестированными антимикотиками.

В этом исследовании мы изучали активность *in vitro* эконазола, миконазола, клотримазола и нистатина против недавно выделенных клинических изолятов *Candida* с целью получения новых данных о любых возможных изменениях МИК, в частности по отношению к видам *C. non-albicans*. В соответствии с предыдущими данными [19, 24], результаты нашего исследования подтверждают, что все три имидазольные препараты обладают аналогичной и весьма значительной активностью против недавно выделенных изолятов *C. albicans* (МИК<sub>90</sub> 0,06 мг/л). Кроме того, полиен нистатин продемонстрировал значительную противогрибковую активность (полное ингибирование) в отношении *C. albicans*, хотя и с более высоким значением МИК<sub>90</sub> по сравнению с МИК<sub>90</sub>, наблюдаемой у азолов (4 мг/л).

Противогрибковая активность азольных препаратов была менее выраженной против *non-albicans* штаммов в сравнении с действием против *C. albicans*, что подтверждается более высоким показателем МИК<sub>90</sub> (в 2-133 раза выше). В отличие от этого противогрибковая активность нистатина против всех видов *Candida* была аналогичной (значение МИК<sub>90</sub> составило 4 мг/л в отношении видов как *albicans*, так и *non-albicans*). Для *C. glabrata* наиболее низкие показатели МИК<sub>90</sub> наблюдались при воздействии на нее эконазола (0,5 мг/л), а для других видов *non-albicans* — *C. krusei*, *C. tropicalis* и *C. parapsilosis* — самые низкие значения МИК<sub>90</sub> выявлялись при воздействии клотримазола (0,5; 0,25 и 0,12 мг/л соответственно).

Следует отметить, что различие показателей МИК для имидазольных препаратов и нистатина может быть связано с различными механизмами действия этих двух классов антимикотиков. Имидазолы меняют проницаемость клеточной оболочки чувствительных к ним дрожжевых грибов путем ингибирования фермента ланостерол-14-альфа-деметилазы. При этом блокируется биосинтез эргостерола, который является составной частью клеточной мембраны грибов. Полиен нистатин взаимодействует с эргостеролом и образует каналы, через которые жизненно важные цитоплазматические компоненты выходят из внутренней части грибковой клетки наружу, что приводит к гибели микроорганизма [15]. Кроме того, более низкие показатели МИК<sub>90</sub> не обязательно коррелируют с более высокой эффективностью, даже при сравнении препаратов, принадлежащих к одному классу [8].

Результаты нашего исследования согласуются с предыдущими клиническими данными, свидетельствующими о том, что имидазольные препараты обладают невысокой степенью эффективности при ВВК, вызванном видами *C. non-albicans* [14, 16, 21, 22]. Кроме того, они соответствуют результатам предыдущих исследований чувствительности *in vitro* видов *C. albicans* и *C. non-albicans* к нистатину с применением метода CLSI [2, 3, 5, 11, 22]. Действительно, показатели МИК<sub>90</sub>, наблюдаемые в ходе предыдущих исследований, были почти аналогичны значению 4 мг/л, выявленному во время проведения нашего исследования. S.S. Richter et al. было изучено большое количество вагинальных штаммов *Candida* (582 из тех же пяти видов, которые были оценены в ходе нашего исследования), в результате чего для всех видов было получено такое же значение МИК<sub>90</sub> для нистатина — 4 мг/л [22]. Поэтому несмотря на то что нистатин уже более 40 лет применяется для лечения ВВК, он является эффективным препаратом и в настоящее время.

Следует учитывать тот факт, что хотя исследования чувствительности к антимикотикам *in vitro* могут стать полезным инструментом для прогнозирования терапевтического эффекта, они не всегда правильно отображают то, что происходит *in vivo* вследствие индивидуальной variability, характеристик препарата, а также variability поведения микроорганизмов в каждом отдельном случае [9, 13, 20, 27]. Важно также отметить, что для интерпретации результатов активности антимикотиков против различных видов *Candida* необходимы клинические пограничные показатели. В нашем исследовании пограничных показателей CLSI в отношении протестированных местных антимикотиков не было и поэтому отсутствовали критерии интерпретации резистентности. Тем не менее наши данные свидетельствуют, что все протестированные антимикотики обладают надлежащей активностью против изолятов



*Candida spp.* с широким диапазоном значений МИК (от 0,015 до 8 мг/л) в зависимости от вида.

### Выводы

В заключение следует отметить, что результаты данного исследования *in vitro* подтверждают стойкую чувствительность *C. albicans* к наиболее часто применяемым местным антимикотикам и могут служить аргументом в пользу лечения ВВК, вызванного разновидностями *Candida non-albicans*, с помощью лекарственных препаратов, альтернативных имидазолам, таких как нистатин. Использование нистатина может иметь особое значение для женщин, пораженных *C. non-albicans* с более высоким уровнем резистентности к широко используемым препаратам на основе имидазола [1].

Целесообразно провести сравнительное клиническое исследование, чтобы сопоставить стабильный показатель МИК нистатина и повышенные МИК эконазола, миконазола и клотримазола с успехом или неудачей в лечении пациенток с ВВК.

### Список использованной литературы

- Achkar J.M., Fries B.C. Candida infections of the genitourinary tract. Clin Microbiol Rev 2010; 23: 253-73.
- Blignaut E., Messer S., Hollis R.J., Pfaller M.A. Antifungal susceptibility of South African oral yeast isolates from HIV/AIDS patients and healthy individuals. Diagn Microbiol Infect Dis 2002; 44: 169-74.
- Brito G.N., Inocencio A.C., Querido S.M., Jorge A.O., Koga-Ito C.Y. In vitro antifungal susceptibility of Candida spP. oral isolates from HIV-positive patients and control individuals. Braz Oral Res 2010; 25: 28-33.
- Buscemi L., Arechavala A., Negroni R. Study of acute vulvovaginitis in sexually active adult women, with special reference to candidosis, in patients of the Francisco J Muniz Infectious Diseases Hospital. Rev Iberoam Micol 2004; 21: 177-81.
- Carrillo-Munoz A.J., Quindos G., Tur C., Ruesga M.T., Miranda Y., del Valle O. et al. In vitro antifungal activity of liposomal nystatin in comparison with nystatin, amphotericin B cholesteryl sulphate, liposomal amphotericin B, amphotericin B lipid complex, amphotericin B desoxycholate, fluconazole and itraconazole. J Antimicrob Chemother 1999; 44: 397-401.
- Cauwenbergh G. Vaginal candidiasis: evolving trends in the incidence and treatment of non-Candida albicans infection. Curr Probl Obstet Gynecol Fertil 1990; 8:241.
- CDC, MMWR. Vulvovaginal candidiasis. Sexually transmitted diseases treatment guidelines 2010, vol. 5. 2010; P. 61-3.
- Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts; approved standard M27-A3, 3rd ed., PA: CLSI; 2008.
- Dalben-Dota K.F., Faria M.G., Bruschi M.L., Pelloso S.M., Lopes-Consolaro M.E., Svidzinski T.I. Antifungal activity of propolis extract against yeasts isolated from vaginal exudates. J Altern Complement Med 2010; 16: 285-90.
- Donders G.G.G., Bellen G., Mendling W. Management of recurrent vulvovaginal candidosis as a chronic illness. Gynecol Obstet Invest 2010; 70: 306-21.
- Dota K.F., Consolaro M.E., Svidzinski T.I., Bruschi M.L. Antifungal activity of Brazilian propolis microparticles against yeasts isolated from vulvovaginal candidiasis. Evid Based Complement Alternat Med 2011 [ID201953].
- Eckert L.O. Clinical practice. Acute vulvovaginitis. N Engl J Med 2006; 355:1244-52.
- Fan S.R., Liu X.P., Li J.W. Clinical characteristics of vulvovaginal candidiasis and antifungal susceptibilities of Candida species isolates among patients in southern China from 2003 to 2006. J Obstet Gynaecol Res 2008; 34: 561-6.
- Fidel Jr P.L., Vazquez J.A., Sobel J.D. Candida glabrata: review of epidemiology, pathogenesis, and clinical disease with comparison to C. albicans. Clin Microbiol Rev 1999; 12: 80-96.
- Ghannoum M.A., Rice L.B. Antifungal agents: mode of action, mechanisms of resistance, and correlation of these mechanisms with bacterial resistance. Clin Microbiol Rev 1999; 12: 501-17.
- Lynch M.E., Sobel J.D. Comparative in vitro activity of antimycotic agents against pathogenic vaginal yeast isolates. J Med Vet Mycol 1994; 32: 267-74.
- Pappas P.G., Kauffman C.A., Andes D., Benjamin Jr D.K., Calandra T.F., Edwards Jr J.E. et al. Clinical practice guidelines for the management of candidiasis: 2009 update by the Infectious Diseases Society of America. Clin Infect Dis 2009; 48: 503-35.
- Paulitsch A., Weger W., Ginter-Hanselmayer G., Marth E., Buzina W. A 5-year (2000-2004) epidemiological survey of Candida and non-Candida yeast species causing vulvovaginal candidiasis in Graz Austria. Mycoses 2006; 49: 471-5.
- Reef S.E., Levine W.C., McNeil M.M., Fisher-Hoch S., Holmberg S.D., Duerr A. et al. Treatment options for vulvovaginal candidiasis, 1993. Clin Infect Dis 1995; 20: S80-90.
- Rex J.H., Pfaller M.A., Walsh T.J., Chaturvedi V., Espinel-Ingroff A., Ghannoum M.A. et al. Antifungal susceptibility testing: practical aspects and current challenges. Clin Microbiol Rev 2001; 14: 643-58.
- Ribeiro M.A., Dietze R., Paula C.R., Da Matta D.A., Colombo A.L. Susceptibility profile of vaginal yeast isolates from Brazil. Mycopathologia 2001; 151: 5-10.
- Richter S.S., Galask R.P., Messer S.A., Hollis R.J., Diekema D.J., Pfaller M.A. Antifungal susceptibilities of Candida species causing vulvovaginitis and epidemiology of recurrent cases. J Clin Microbiol 2005; 43: 2155-62.
- Sherrard J., Donders G., White D., Jensen J.S. European (IUSTI/WHO) guideline on the management of vaginal discharge, 2011. Int J STD AIDS 2011; 22: 421-9.
- Sobel J.D. Vaginitis. New Engl J Med 1997; 337: 1896-903.
- Sobel J.D. Vulvovaginal candidosis. Lancet 2007; 369: 1961-71.
- Sobel J.D., Brooker D., Stein G.E., Thomason J.L., Wermeling D.P., Bradley B. et al. Single oral dose fluconazole compared with conventional clotrimazole topical therapy of Candida vaginitis. Fluconazole Vaginitis Study Group. Am J Obstet Gynecol 1995; 172: 1263-8.
- Sobel J.D., Zervos M., Reed B.D., Hooton T., Soper D., Nyirjesy P. et al. Fluconazole susceptibility of vaginal isolates obtained from women with complicated Candida vaginitis: clinical implications. Antimicrob Agents Chemother 2003; 47: 34-8.
- Sobel J.D., Wiesenfeld H.C., Martens M., Danna P., Hooton T.M., Rompalo A. et al. Maintenance fluconazole therapy for recurrent vulvovaginal candidiasis. N Engl J Med 2004; 351: 876-83.



29. Spinillo A., Capuzzo E., Gulminetti R., Marone P., Colonna L., Piazzì G. Prevalence of and risk factors for fungal vaginitis caused by non-*albicans* species. *Am J Obstet Gynecol* 1997; 176: 138-41.

30. Vermitsky J.P., Self M.J., Chadwick S.G., Trama J.P., Adelson M.E., Mordechai E. et al. Survey of vaginal-flora *Candida* species isolates from women of different age groups by use of species-specific PCR detection. *J Clin Microbiol* 2008; 46:1501-3.

31. Watson M.C., Grimshaw J.M., Bond C.M., Molli-son J., Ludbrook A. Oral versus intravaginal imidazole and triazole antifungal agents for the treatment of uncomplicated vulvovaginal candidiasis (thrush): a systematic review. *BJOG* 2002; 109: 85-95.

**Дослідження чутливості *in vitro* 200 нещодавно виділених клінічних ізолятів *Candida spp.* до місцевих антимікотиків, які використовуються для лікування кандидозу: імідазольним препаратам і ністатину**

**Ф. Шукрі, М. Бендердуш, П. Седнауї**

Місцеві антимікотики широко рекомендовано для лікування вульвовагінального кандидозу (ВВК). Місцеві антимікотики, які найбільш часто призначають – імідазоли клотримазол, міконазол, еконазол і поліен ністатин – представлено на фармацевтичному ринку протягом уже понад 30 років. Існує недостатньо нових даних про чутливість до вищевказаних антимікотиків різних видів *Candida*, особливо non-*albicans* штамів, які, очевидно, менш сприйнятливі до лікування імідазолами. Мета дослідження полягала у визначенні в умовах *in vitro* чутливості великої кількості нещодавно виділених клінічних ізолятів *Candida spp.* до місцевих антимікотиків, які найбільш часто призначають.

Дослідження на чутливість до антимікотиків було проведено з використанням методу мікро-розведень в бульйоні відповідно до протоколу M27-A3 Інституту клінічних і лабораторних стандартів США (Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI). Також було визначено мінімальні інгібуючі концентрації (МІК) для еконазолу, міконазолу, клотримазолу та ністатину. Клінічні ізоляти включали: *Candida albicans* – 113 штамів, *Candida glabrata* – 54 штами, *Candida krusei*, *Candida tropicalis* і *Candida parapsilosis* – по 11 штамів кожного виду. МІК<sub>90</sub> трьох азольних препаратів по відношенню до ізолятів *C. albicans* становила 0,06 г/л, у той час як МІК<sub>90</sub> ністатину – 4 мг/л. Значення МІК<sub>90</sub> щодо ізолятів *Candida non-albicans* коливалися в діапазонах 0,5-8; 1-4 і 0,12-4 мг/л для еконазолу, міконазолу і клотримазолу відповідно. Показник МІК<sub>90</sub> ністатину залишався на рівні 4 мг/л для всіх протестованих видів *Candida non-albicans*.

Результати даного дослідження підтверджують чутливість *C. albicans* до найбільш часто вживаних місцевих антимікотиків і можуть служити аргументом на користь лікування ВВК, викликаного різновидами *Candida non-albicans*, за допомогою альтернативних імідазолу лікарських засобів, таких як ністатин.

**Ключові слова:** вульвовагінальний кандидоз, *Candida spp.*, місцеві імідазольні препарати, ністатин.

**In vitro susceptibility profile of 200 recent clinical isolates of *Candida spp.* to topical antifungal treatments of vulvovaginal candidiasis, the imidazoles and nystatin agents**

**F. Choukri, M. Benderdouche, P. Sednaoui**

Topical antifungal treatment of vulvovaginal candidiasis is widely recommended. The most commonly recommended topical antifungals (the imidazoles clotrimazole, miconazole and econazole and the polyene nystatin) have been on the market for more than 30 years. There are only a few recent data available on the susceptibility of different *Candida* species to these antifungals, especially of non-*albicans* *Candida* species which appear to be less responsive to treatment with imidazoles. The study aimed to determine the *in vitro* susceptibility profile of a large number of recent clinical isolates of *Candida spp.* to the most commonly recommended topical antifungals. An antifungal susceptibility test was performed according to the CLSI M27-A3 broth microdilution method, and minimal inhibitory concentrations were determined for econazole, miconazole, clotrimazole and nystatin.

The clinical isolates comprised of: 113 *Candida albicans*, 54 *Candida glabrata*, 11 *Candida krusei*, 11 *Candida tropicalis* and 11 *Candida parapsilosis*. The three azoles agents exhibited MIC<sub>90</sub> values of 0.06 mg/L against *C. albicans* isolates, while nystatin exhibited a MIC<sub>90</sub> of 4 mg/L. For non-*albicans* *Candida* isolates, MIC<sub>90</sub> values ranged from 0.5 to 8 mg/L, from 1 to 4 mg/L and from 0.12 to 4 mg/L, for econazole, miconazole, clotrimazole, respectively. Nystatin MIC<sub>90</sub> remained at 4 mg/L for all non-*albicans* *Candida* species tested. These results confirmed the susceptibility of *C. albicans* to the most frequently used topical agents and may support the use of alternative agents to imidazoles, such as nystatin, to treat vulvovaginal candidiasis caused by non-*albicans* *Candida* species.

**Keywords:** vulvovaginal candidiasis, *Candida spp.*, topical imidazole agents, nystatin.

①